

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 52-012982

(43)Date of publication of application : 31.01.1977

(51)Int.Cl.

C12K 9/00

(21)Application number : 50-089315

(71)Applicant : OLYMPUS OPTICAL CO LTD

(22)Date of filing : 22.07.1975

(72)Inventor : SAWAMURA ICHIRO  
SOGI SHINROKU  
GAMACHI SHINICHI  
YOSHINAGA MAKOTO  
GOTO ATSUO  
IZAWA MASAO  
NAKAJIMA YOSHIO  
ATOMACHI NAGAHIRO  
SHINOHARA TOSHIO  
HATTORI SHINICHIRO

## (54) APPARATUS FOR AUTOMATIC INCUBATION

## (57)Abstract:

PURPOSE: An apparatus for automatic incubation of tissues and cells through standardized operations excluding contaminations with external air and manual operations.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

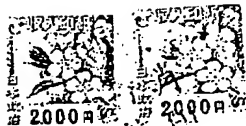
[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office



(4,000円)

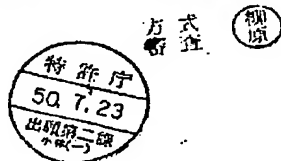
(特許法第38条ただし書の規定による特許出願)

昭和 50 年 7 月 22 日

特許庁長官 勅

1. 発明の名称 自動培養装置
2. 特許請求の範囲に記載された発明の数 2
3. 発明者 東京都八王子市めじろ台3の23の12  
沢村 一郎  
(ほか9名)
4. 特許出願人 東京都渋谷区幡ヶ谷2の4302  
(057)オリンズ光学工業株式会社  
代表取締役 北村 茂男

50 089315



#### 明 細 書

1. 発明の名称 自動培養装置

2. 特許請求の範囲

(1) 組織または細胞浮遊液を入れた培養容器内に、密封容器をなす本体と、上記培養容器内の組織または細胞の増殖状態を検知するための検知部と、増殖細胞の分離、採集、希釈分注を行なう操作部と、上記本体内の雰囲気を一一定にするための装置と、上記検知部、操作部の各部と上記本体内の雰囲気とを統括制御する制御部とを備えた自動培養装置。

(2) 上記本体内に回転し得るよう配置され、複数個の培養容器を載置し得るよう構成された培養容器載台を更に備えた特許請求の範囲1に記載した自動培養装置。

3. 発明の詳細な説明

本発明は生体組織および細胞を自動的に培養するための装置に関するものである。

医学、生物学、薬学、農学などあらゆる分野において、生体組織および細胞の培養技術は、細胞

① 日本国特許庁

## 公開特許公報

①特開昭 52-12982

④公開日 昭52.(1977) 1.31

②特願昭 50-89315

②出願日 昭50.(1975) 7.22

審査請求 未請求 (全8頁)

庁内整理番号

7421 44

⑤日本分類

36(2)B6

⑥Int.Cl<sup>2</sup>

C12K 9/00

レベルでの研究を行なうために不可欠な基礎実験技術である。しかし生体組織および細胞の継代培養は技術的にむずかしく、安定した培養株が得られなかった。

しかし最近になつてふ卵器中でのガス培養の技術、すなわち特定のガス雰囲気中における培養技術の普及に伴い、例えば肝臓、神経系、脳下垂体などの従来は困難とされていた特殊細胞でさえ継代培養が可能になつてきている。

このような現在行なわれている細胞の手法の要点を次に述べる。まず継代培養を行なうためにはペトリディッシュ等培養容器に所定の細胞数の細胞を培養液にて希釈し、浮遊状態にして注入し、所定の雰囲気中に保たれたふ卵器の中で静置培養する。これを所定時間経過後に培養状態をチェックするために、ふ卵器より所定の培養容器を取出し、顕微鏡により細胞増殖の要否を換鏡する。そしてこれによつて目的とする細胞が所定の容器一杯に増殖していることが確認されると、これを無菌状態のクリーンベンチに移し、培養容器中の培養液をピペット

で吸引し廃棄し、容器中に残った細胞を緩衝液を注入することによつて洗浄し、この洗浄に使用した緩衝液は再び吸引し廃棄する。次に培養容器の底面に着床し、増殖した細胞を培養容器より遊離させるためにトリプシンなどの酵素を注入する。これにより酵素によつて容器の底面より遊離した細胞は遠心分離器を使用して分離、採集される。つまり所定の培養容器中の酵素と遊離細胞とを遠心管に移し遠心分離を行ない、上清液である酵素を吸引廃棄する。細胞の種類によつては酵素と細胞の分離のために遠心分離器を使用しない場合もある。この場合は酵素による着床細胞の遊離が起る直前に酵素を吸引、廃棄し次の工程へ移る。次は所定の希釈濃度で細胞を分注するために培養液を注入し、ピペットで細胞を再浮遊させ、再浮遊した細胞浮遊液を定量ずつあらたな培養容器に分注する。このようにして希釈分注操作が終了した培養容器はクリーンベンチより取出され所定の雰囲気中に保たれたふ卵器の中へ移し静置し、再び培養を進行させる。

(3)

織又は細胞が、テクニシヤンの経歴並びに技能に左右されることになる。従つて培養技術自体の標準化、統一化が困難であることを意味している。このために同一テーマの研究を行なつた場合でも、研究者によつて全く逆の結論が得られるようなこともしばしば見聞される。

更にこれら培養技術を備えたテクニシヤンの養成には、最低2年間が必要とされているために要員の絶対数が不足し、研究者が本来の研究に全力を傾注できずに、枚葉の培養技術にかなりの精力を割かねばならないのが実情である。

本発明は従来の手法による外気のコンタミネーションを防止し、人為的操作による影響をとりぞき、さらに培養における各操作の標準化、統一化をはかることによつて標準化された組織または細胞を自動的に培養することを目的とした装置を提供することにある。

以下図示する一実施例にもとづき本発明の自動培養装置の詳細な内容について説明する。図面第1図には本発明の自動培養装置全体の概要が示し

しかしながら以上説明した手法においては次のような欠点を有する。

その一つは顕微鏡によつて組織または細胞の増殖状態をチェックするためには、培養容器をふ卵器よりしばしば外気中に取り出す必要がある。そのため所定のガス雰囲気、温度、湿度等の環境条件下から外気中に取り出されることによつて培養条件が急変し、したがつて培養組織または細胞に微妙な変化をきたすことがある。又外気にふれるために雑菌によるコンタミネーションを受ける。このように環境条件の変化による影響と雑菌の混入等の直接的な被害を受けることになる。

次に顕微鏡観察の結果にもとづいて、テクニシヤンが前述のような細胞分離—採集—希釈—分注の継代培養操作をクリーンベンチの中で手作業で行なうために、テクニシヤンの培養操作の培養された組織または細胞に対する直接の影響が生ずる。つまり、この様な従来行なわれている培養操作では一定の条件のもとでの標準化された培養が行ない得ないことを示している。又培養された組

(4)

てあり、10は本体、11はその蓋で、この本体内部は外気とは完全に遮断されていて培養に必要な雰囲気中に保たれ、又大別して次のような装置が配置されている。つまり増殖した細胞の分離、採集、希釈分注等を行なう培養操作部20と、顕微鏡検出部40と、培養容器装置60と、雰囲気制御装置70とからなっている。そして更にこれらの各部分の動作等を統括制御する装置制御部80を有し、それは各種弁制御部81、検知制御部82、装置駆動制御部83、雰囲気制御部84よりなつていて、これら各制御部は本体内の各部分と電気的に接続されている。これら各部分の構造並びに作用について次に説明する。まず培養操作部20は円板状の培養容器載台21、符号22にて示す部分に簡単に図示した細胞分離、採集、希釈、分注を行なう部分等よりなつていて、このうち培養容器載台21は第2図より明らかなように培養容器を位置せしめる箇所(注釈)に円形の孔21aを有し、又周辺にはギャ-21bが形成されている。そしてこのギャ-21bと吻合するビニ-23が

(5)

(6)

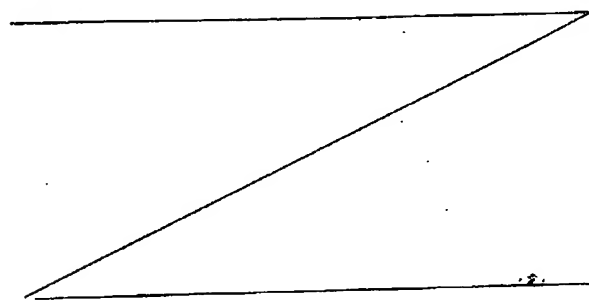
設けられ、適宜な駆動源によりこのピニオン 23 を回転せしめることによつて培養容器載台 21 が回転されるような構成になつている。又細胞分離等を行なう符号 22 にて示す部分の詳細は第 8 図に図示するような構成をなしており、図において 24 は排水槽で弁 24 a、ポンプ 24 b、三方弁 24 c を介してチューブ 24 d にて第一の廃棄ノズル 25 に接続されている。26 は培養液槽で同様に弁 26 a、三方弁 26 b、ポンプ 26 c、三方弁 26 d を介してチューブ 26 e にて第一の培養液注入ノズル 27 に接続され、又 28 は緩衝液槽で弁 28 a、ポンプ 28 b を介してチューブ 28 c にて緩衝液注入ノズル 29 に接続されている。30 は酵素液槽で弁 30 a、ポンプ 30 b を介してチューブ 30 c にて酵素液注入ノズル 31 に接続されている。32 は分注ノズルで攪拌装置 33、ポンプ 32 a、弁 32 b を介してチューブ 32 c により浮遊液注入ノズル 34 に接続されている。35 はチューブ 35 a により三方弁 24 c に接続された第二の廃棄ノズル、36 はチューブ

(7)

このような構成の培養操作装置による細胞分離採集、希釈、分注等の操作について次に説明する。まず培養すべき組織または細胞を入れこれに培養液を加えた培養容器 12 を培養容器載台 21 の所定箇所（孔 21 a が形成されている部分）に嵌せ本体 10 に蓋 11 をかぶせて密封し、所定の雰囲気中にて静置培養を行なう。このようにして一定時間経過した後又は観察によつて所定の細胞数の細胞が増殖した際に第 8 図に示す第一の廃棄ノズル 25 を培養容器 12 中に下降せしめ、弁 24 a を開きポンプ 24 b を働かせ排水槽 24 中に排棄する。次に第一の廃棄ノズル 25 を上昇せしめ弁 24 a を閉じ、ポンプ 24 b の運転を停止した後弁 28 a を開き緩衝液注入ノズル 29 を下降せしめ又ポンプ 28 b を働かせることにより緩衝液槽 28 中にある緩衝液の一定量を培養容器 12 中に緩衝液注入ノズルより培養容器内へ注入し、この緩衝液にて培養細胞の表面を洗う。このようにして培養細胞の表面の洗浄が終ると弁 28 a が閉じられ、ポンプ 28 b の運転が停止さ

(9)

特開昭52-12982 (8)  
36 a にて三方弁 26 b に接続されている吸引ノズル、37 はチューブ 37 a によつて三方弁 26 d に接続ししたがつて培養液槽に接続されている第二の培養液注入ノズルで、これらの四つのノズル即ち浮遊液注入ノズル 34、第二の廃棄ノズル 35、吸引ノズル 36、第二の培養液注入ノズル 37 は細胞の分離採集を行なうために使用される遠心分離器 38 の上に配置されている。この遠心分離器 38 には、図示していないが遠心分離操作を行なう際に、装置各部に振動を与えないように、その振動を吸収させるための機構例えば緩衝パネ等の機構が付帯させてある。



(8)

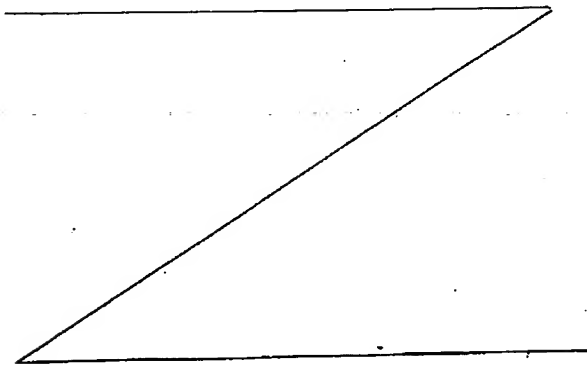
れ、一方ポンプ 24 b の働き等によつて既に説明したと同様に培養容器 12 中の緩衝液は排水槽 24 へ排棄される。この排棄が終了すると弁 30 a を開きポンプ 30 b を働かせることにより酵素液槽 30 中の酵素液を酵素液注入ノズル 31 より培養容器 12 中に注入する。酵素液の注入後酵素液注入ノズル 31 を上昇せしめると共に攪拌ノズル 32 を下降せしめ、これと共にポンプ 32 a を働かせて培養容器内の酵素液を吸引し攪拌ノズル 32 から弁 32 b までの間のチューブ内に酵素液が満たされたところでポンプ 32 a の運転を停止せしめ、攪拌装置 33 を働かせる。これによつて酵素液の攪拌を行ない培養容器に着床している細胞を遊離させる。細胞が遊離したところで攪拌を停止し、弁 32 b を開くと共にポンプ 32 a を再び働かせて培養容器内の遊離した細胞を有する細胞浮遊液を攪拌ノズル 32 より吸引し、細胞浮遊液注入ノズル 34 より細胞浮遊液を遠心管に注入し遠心分離を行なう。分離された細胞浮遊液のうち上清酵素液を弁 24 a を開き又三方弁

24cを第二の廃棄ノズル36が排液槽24と連通するように切換え更にポンプ24bを働かせることによつて排液槽24内に廃棄する。このようにして廃液を廃棄した後弁24aを閉じると共にポンプ24bの働らきを停止し弁26aを開き又弁26dを培養液槽28と第二の培養液注入ノズル37とが連通するようにした上でポンプ26cを働かせ、第二の培養液注入ノズルより培養液を遠心管に注入する。次に三方弁26bを吸引ノズル38と第一の培養液注入ノズル27とが連通するように切換え、ポンプ26cを働かせれば細胞は新たな培養液と共にいくつかの新しい培養容器に移され、再び静置培養が行なわれる。

以上の各操作のうち、例えば緩衝液を緩衝液注入ノズルより培養容器内に注入する時や排液を排液ノズルより吸引する時等にはノズルを培養容器内に挿入する必要がある。一方吸引や注入の操作を行なわない時には、培養容器を移動させる必要性や、操作時以外は培養容器に蓋をしておいた方がより好ましいこと等からノズルは上方に移動させ

00

中にこのチューブを押圧する装置を設け、これによつてチューブ32cを押圧してチューブの一部をつぶし、押圧を解除することによつてチューブの復元力により元の状態に戻す操作の繰返しにより、液の注入、吸引を繰返して攪拌する装置が使用されているが、他の方法にても良い。又このような装置を緩衝液槽28と緩衝液注入ノズルとを連結するチューブ28c中に設けて、緩衝液の注入、吸引を繰返すようにすれば細胞の洗浄を一層効果的に確実に行なうことが出来る。



04

ておくことが望ましい。そのために総てのノズルを一体に保持具にて保持し、これを上昇下降せしめるようにしても良いが、総てのノズルを上下動させた場合には、ノズルの先端に付着して残つた液が細胞にふれる等のことが好ましくない。したがつてラック、ピニオンやカム等よりなる適宜な上下動機構を各ノズルに夫々設け、必要とするノズルのみを下降せしめるようにすることが望ましい。尚遠心分離機28上に配置した各ノズルも同様である。

更にこれらのノズルはコンタミネーションや溶液の混合等を完全に防止するためには各操作毎に洗浄するか、その都度新しいものと交換するようにすることが一層望ましい。

又これら培養操作装置の前述の各作用は装置制御部80によつて行なわれる。つまり各弁の開閉、切換等は各種弁制御部81にて、培養容器載台21の回動等は装置駆動制御部83にて制御され、これらを装置制御部にて統括して行なう。

又攪拌装置33としては例えばチューブ32c

02

次に顕微鏡検出部40について説明する。第1図に示すように41は照明光源ランプ、42はコレクターレンズ、43は明るさ絞り、44は反射鏡、45はコンデンサーレンズ、46は対物レンズ、47は反射鏡、48はリレーレンズ、49は半透過鏡、50は接眼レンズ、51は検知器である。又52および53は本体10の壁に設けたガラス板である。この顕微鏡検出部40のコンデンサーレンズ45と対物レンズ46の間に培養操作部20の培養容器載台21が位置するように構成されている。したがつて培養容器中の細胞を観察しようとする時には、この培養容器載台を回動させ細胞の入った培養容器が顕微鏡検出部40の光学系中に位置するようにして接眼レンズによる肉眼での観察および検知器による検知を行なう。この顕微鏡検出部40は照明用光源ランプ41等が本体10の外に配置されているが、全体を本体内に入れた構成としても良い。

又培養容器供給装置80は第4図に示すような構造のものである。この図において81は培養容

06

器収納室、82は蓋、83は培養容器供給台、84は上記供給台の下面に固定されたラック、85はラック84と噛み合うピニオンでこれらは全体が密封されている。又培養装置本体10には窓10aが形成されていて、ここから培養容器載台21上に培養容器12が送り込まれる。つまりピニオン85の駆動によつて培養容器供給台83は図面右側に移動し、これによつて培養容器収納室81内に積み重ねられ収納されたあらかじめ滅菌された培養容器のうち最も下に位置する容器が培養容器供給台83によつて右方に移動させられる。この場合、培養容器載台21には培養容器を載せる箇所に円形の孔21aを有すると共に載台21の中心に向けて溝21cとが形成してある。したがつてこの溝21cが培養容器供給台83と掛う位置に培養容器載台21を停止せしめれば、上述の培養容器供給台83の移動の際、培養容器供給台83の先の部分は培養容器載台21の溝21c内に挿入されるので、その円形状の孔21aの上に正しく培養容器12を載せることが出来る。

09

はピニオンで夫々蓋着脱板86の下面に設けられたラック86aおよび上下動台87に設けられたラック87aと噛み合っている。

このような構造の蓋着脱機構を培養容器12をはさんで培養容器係給装置80に相対する位置に配置し、分注などのために培養容器供給装置80により培養容器載台21の所定位置に培養容器12を位置せしめた後に蓋着脱機構のピニオン89aを適宜手段により回転せしめて蓋着脱板86を第5図(b)に示す容器の位置まで前進せしめた後に、ピニオン89bを回転せしめ蓋着脱板86を上昇せしめれば、蓋13は蓋着脱板86にて保持され上昇し、培養容器12より取りはずされる。その後ピニオン89aを逆転させ蓋着脱板86を蓋13を保持したまま後退せしめる。このようにして蓋13を取外した培養容器12に既に述べたように培養液注入ノズルより細胞および培養液を注入する。注入後蓋着脱機構は前述とは全く逆の工程を通つて蓋13を培養容器12にかぶせ、静置培養を行なうことになる。

09

特開昭52-12982(5)

又培養容器供給台83の容器を乗せる部分の上面83aを培養容器載台21の表面21dよりも僅かに低くしておけば、ピニオン85を逆転させることによつて供給台83を図示する元の位置に戻す場合、培養容器はそのままの状態では培養容器載台21上に残し、供給台83のみを移動させることが出来る。

このようにして培養容器載台21の所定の位置におかれた培養容器12に細胞等を入れる場合には容器の蓋13を取外す必要がある。このための蓋着脱機構は第5図に示してある。即ち、86は蓋着脱板でその先端には蓋保持部86aが形成されている。つまりこの蓋保持部86aはその上側の間隔t<sub>1</sub>が培養容器の蓋13の直径と又下側の間隔t<sub>2</sub>が培養容器12の直径と夫々ほぼ等しく形成されている。したがつて、この蓋着脱板86を培養容器に向け移動させた場合、その蓋保持部86a内に容器を位置せしめることが出来る。この場合蓋は丁度段部86bにて支えられる。又87は上下動台、88は支持台、89a、89b

(16)

この蓋着脱機構は、図示してないが、適宜な部材にて第2図に示す位置に固定してあるので、一つの培養容器に細胞を分注した後に培養容器載台21を例えば隣接する次の孔21aが培養容器供給装置80の位置に移動するようにして、前述と全く同じ操作を培養容器供給装置80、蓋着脱機構等に行なわせて、他の培養容器に分注し静置培養を行なうように、順次操作させればよい。

これら培養容器供給装置や蓋着脱機構等の操作は培養容器載台の回転操作同様に装置駆動制御部によつて制御される。

最後に雰囲気制御装置70において、第1図に示す71aはCO<sub>2</sub>検出器、71bはCO<sub>2</sub>検知制御部、71cはCO<sub>2</sub>ガスポンプ、72aは温度検知器、72bは温度調整器である。そしてこれらによつて、本体10内のCO<sub>2</sub>の濃度、温度等を夫々検知し一定の雰囲気から変化が生じた場合には所定の値になるように夫々の発生器を切らせる。なお本体10の内部は温度も一定に保たれ、CO<sub>2</sub>その他、N<sub>2</sub>およびO<sub>2</sub>が所定の割合にて混合された

状態に常に保つ必要がある。侧面には温度や $\text{CO}_2$ に関する検知器等のみしか示してないが、湿度や $\text{N}_2$ 、 $\text{O}_2$ も同様の方法で制御する必要があることは云うまでもない。

以上説明した各部を制御する制御部の構成は、シーケンス制御装置としてハード的に構成することも可能であるが、インターフェイス装置を介してコンピュータに接続し、プログラミングによって制御することにすれば、プログラマブルな制御操作が可能である。

次に以上各部分毎に説明した本発明の自動培養装置の全体の作用について簡単に説明する。まず培養容器12内に培養すべき細胞又は組織と培養液とを入れて本体10内の培養容器載台21上の所定の位置に載せ所定時日放置して静置培養を行なう。その間培養の状態を顕微鏡検出部40にて観察する場合には培養容器載台21を回動させることにより、培養容器12が光学系中に入るようにして肉眼での観察と検知器による検出とを行なう。このようにして所定時日経過後又は顕微鏡検

出部40による観察により細胞が培養容器一杯に増殖したことが確認された時に蓋着脱装置を仿らさせることにより蓋を取除き、第3図をもとに既に説明したように培養液の廃棄、緩衝液による細胞の洗浄、酵素液による着床した細胞の遊離、遠心分離による細胞の分離等が行なわれる。これらの各工程が終了した後に培養容器載台21を一定間隔即ち次の容器を置くべき位置まで回転せしめ更に培養容器供給装置80を仿らかせて、新しい容器を培養容器載台の所定の位置に置く。蓋着脱機構を仿らかせて蓋をとつた上でこの新しい容器に前述の分離された細胞と新しい培養液とが送り込まれ、更に蓋をして再び放置し増殖が行なわれる。このようにして順次培養容器載台21を一定間隔回動しては培養容器供給装置80により培養容器を載台上に載せ、分離された細胞と培養液を分注して行き、最初に培養し増殖した細胞を数箇の培養容器に分けて入れ、夫々静置培養を行なう。

以上のような各操作を繰返し行なうことにより、密封され雰囲気制御装置によつて常に一定の

04

雰囲気<sup>15</sup>コントロールされた本体内にて自動的に継代培養が行なわれる。

尚細胞の像を検出する方法は、スเปクルパターンを利用する方法、分光スペクトルを利用する方法、イオン検出による方法、電気抵抗の変化を利用する方法等も可能である。

又培養容器供給装置80を用いずに、あらかじめ培養容器を培養容器載台21の夫々の孔21aの位置<sup>15</sup>培養容器を載せておいても良い。

以上詳細に説明した本発明の自動培養装置によれば次に列挙するような多めの効果を有するものである。

一定雰囲気<sup>15</sup>に保たれた密閉容器内で、総ての継代培養操作が自動的に行なわれるために、外気による環境条件の変化および外部からのコンタミネーションを受けることがない。

培養条件および培養関連操作の標準化、統一化が出来る。これによつて培養組織または細胞の標準化、統一化が出来る。更に従来苦勞していた追尾試験等も容易に行なうことが出来る。

04

04

培養操作を自動的に行なうことが出来るため、培養操作に要する労力、時間が著しく削減出来る。

熟練したテクニシャンを必要とせず、誰にでも組織または細胞の培養を行なうことが出来る。

装置を大型化することによつて、同時に大量の組織または細胞の培養が可能となる。

#### 4 図面の簡単な説明

第1図は本発明自動培養装置の全体の概要を示す図、第2図は第1図におけるⅡ-Ⅱ線断面図、第3図は細胞分離、採集等を行なう装置の構成を示す図、第4図は培養容器供給装置の断面図、第5図は蓋着脱機構の正面図および平面図である。

10 …… 本体、12 …… 培養容器、21 …… 培養容器載台、40 …… 顕微鏡検出部、80 …… 培養容器供給装置、70 …… 雰囲気制御装置、80 …… 装置制御部。

代理人 篠原 泰司  
向 寛 二



図 1

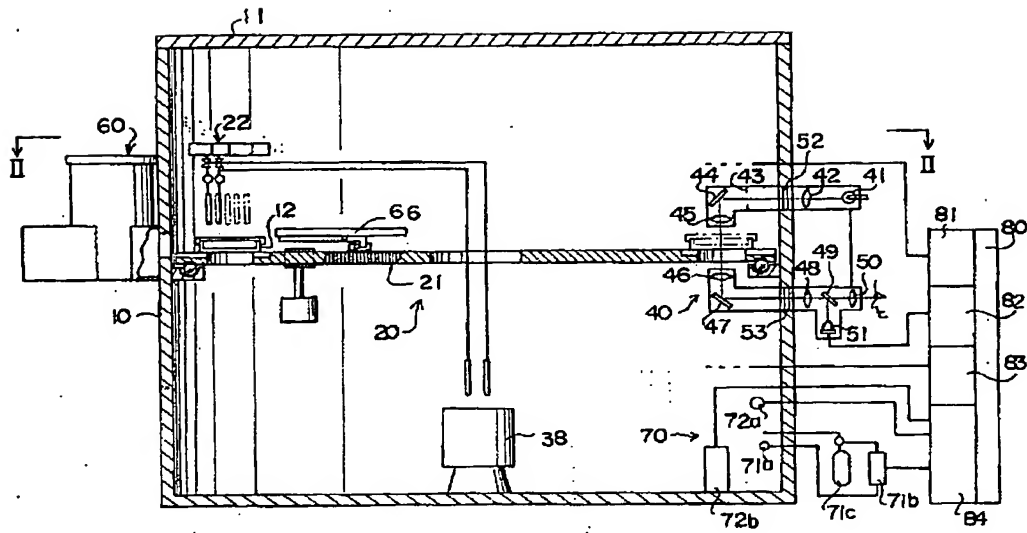


図 2

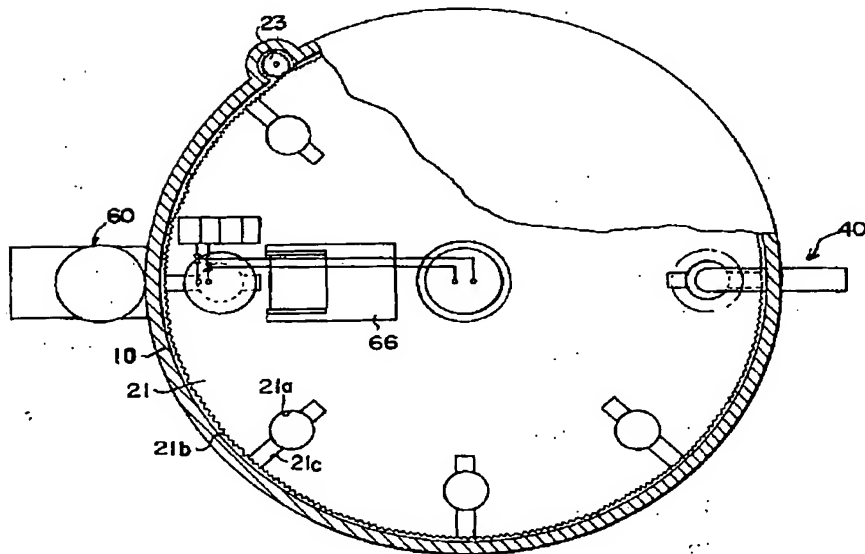


図 3

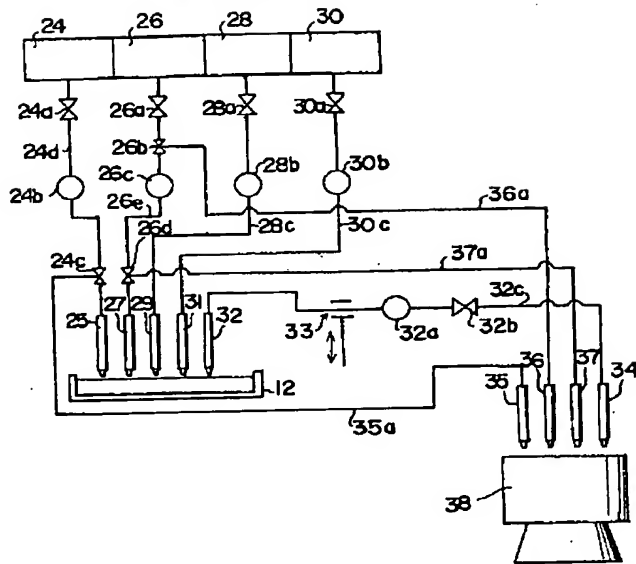


図 4

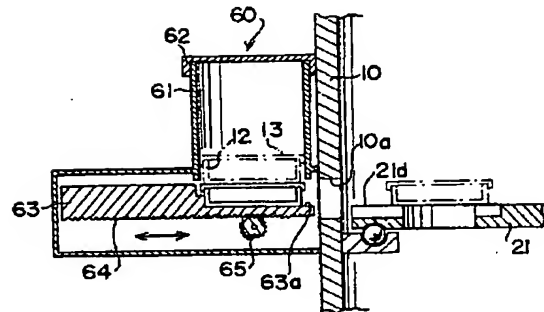
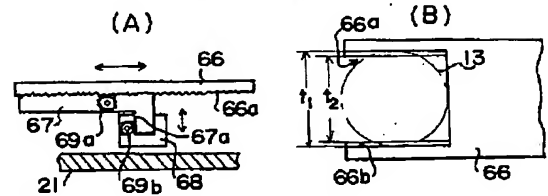


図 5



5. 代理人 〒105 東京都港区新橋5の19  
電話 東京(432)4576  
(6582)弁理士 篠原 泰司  
(ほか1名)

6. 添付書類の目録

(1) 明 細 書	1 通
(2) 図 面	1 通
(3) 委 任 状	1 通
(4) 願 書 副 本	1 通

7. 上記以外の発明者及び代理人

(1) 発 明 者  
東京都八王子市館町1926の10  
會 木 新 六  
東京都日野市三沢979の261  
龍 地 信 一  
東京都八王子市川口町1729の6  
吉 永 允  
東京都立川市若葉町4の25の1  
後 藤 敦 夫  
東京都八王子市台町2の15の17  
井 沢 正 雄

(2) 代 理 人 〒105 東京都港区新橋5の19  
電話 東京(432)4576  
(7586)弁理士 向 寛 二

